

09/890217

PCT/JP00/08391

29.11.00 #7

JP00/8391 日本国特許庁

PATENT OFFICE  
JAPANESE GOVERNMENT

REC'D 29 JAN 2001

VAL'D

PT

別紙添付の書類に記載されている事項は下記の出願書類に記載されている事項と同一であることを証明する。

This is to certify that the annexed is a true copy of the following application as filed with this Office.

出願年月日

Date of Application:

1999年11月29日

出願番号

Application Number:

平成11年特許願第338530号

出願人

Applicant(s):

協和醗酵工業株式会社

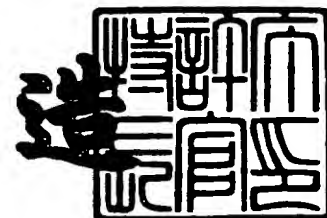
**PRIORITY  
DOCUMENT**

SUBMITTED OR TRANSMITTED IN  
COMPLIANCE WITH RULE 17.1(a) OR (b)

2001年 1月12日

特許庁長官  
Commissioner,  
Patent Office

及川耕造



出証番号 出証特2000-3110792

【書類名】 特許願

【整理番号】 H11-040AK5

【提出日】 平成11年11月29日

【あて先】 特許庁長官殿

【国際特許分類】 A23L 1/237

【発明者】

【住所又は居所】 東京都千代田区大手町一丁目6番1号 協和醗酵工業株式会社 ~~本社内~~

【氏名】 太田 恵教

【発明者】

【住所又は居所】 茨城県稲敷郡阿見町阿見4041 協和醗酵工業株式会社 食品酒類研究所内

【氏名】 斉藤 知明

【発明者】

【住所又は居所】 茨城県稲敷郡阿見町阿見4041 協和醗酵工業株式会社 食品酒類研究所内

【氏名】 岩崎 弘明

【発明者】

【住所又は居所】 茨城県稲敷郡阿見町阿見4041 協和醗酵工業株式会社 食品酒類研究所内

【氏名】 中川 亜紀

【特許出願人】

【識別番号】 000001029

【氏名又は名称】 協和醗酵工業株式会社

【代表者】 平田 正

【手数料の表示】

【予納台帳番号】 008187

【納付金額】 21,000円

【提出物件の目録】

【物件名】	明細書	1
【物件名】	要約書	1
【プルーフの要否】	要	

【書類名】 明細書

【発明の名称】 食塩味増強方法、食塩味増強剤、食塩味調味料および食塩味増強食品

【特許請求の範囲】

【請求項 1】 食塩含有飲食品に、酸性ペプチドを添加することを特徴とする飲食品の食塩味増強法。

【請求項 2】 酸性ペプチドが、蛋白質を加水分解処理して得られるものである請求項 1 記載の食塩味増強法。

【請求項 3】 酸性ペプチドが、蛋白質を加水分解処理および脱アミド処理して得られるものである請求項 1 記載の食塩味増強法。

【請求項 4】 塩基性物質を添加する請求項 1～3 のいずれか記載の飲食品の食塩味増強法。

【請求項 5】 塩基性物質が、塩基性アミノ酸またはコリンである請求項 4 記載の食塩味増強法。

【請求項 6】 塩基性アミノ酸が、アルギニン、リジンまたはオルニチンである請求項 5 記載の食塩味増強法。

【請求項 7】 コハク酸を添加する請求項 1～6 のいずれかに記載の飲食品の食塩味増強法。

【請求項 8】 酸性ペプチドを有効成分とする食塩味増強剤。

【請求項 9】 酸性ペプチドが、蛋白質を加水分解処理して得られるものである請求項 8 記載の食塩味増強剤。

【請求項 10】 酸性ペプチドが、蛋白質を加水分解処理および脱アミド処理して得られるものである請求項 8 記載の食塩味増強剤。

【請求項 11】 塩基性物質を添加する請求項 8～10 のいずれか記載の飲食品の食塩味増強剤。

【請求項 12】 塩基性物質が、塩基性アミノ酸またはコリンである請求項 11 記載の食塩味増強剤。

【請求項 13】 塩基性アミノ酸が、アルギニン、リジンまたはオルニチンである請求項 12 記載の食塩味増強剤。

【請求項 14】 コハク酸を添加する請求項 8～13 のいずれかに記載の飲食品の食塩味増強剤。

【請求項 15】 酸性ペプチドと食塩を含有する食塩味調味料。

【請求項 16】 酸性ペプチドが、蛋白質を加水分解処理して得られるものである請求項 15 記載の食塩味調味料。

【請求項 17】 酸性ペプチドが、蛋白質を加水分解処理および脱アミド処理して得られるものである請求項 15 記載の食塩味調味料。

【請求項 18】 塩基性物質を添加する請求項 15～17 のいずれかに記載の飲食品の食塩味調味料。

【請求項 19】 塩基性物質が、塩基性アミノ酸またはコリンである請求項 18 記載の食塩味調味料。

【請求項 20】 塩基性アミノ酸が、アルギニン、リジンまたはオルニチンである請求項 19 記載の食塩味調味料。

【請求項 21】 コハク酸を添加する請求項 15～20 のいずれかに記載の飲食品の食塩味調味料。

【請求項 22】 酸性ペプチドと食塩を含有する食塩味調味料で味付けされた食塩味増強飲食品。

【請求項 23】 酸性ペプチドが、蛋白質を加水分解処理して得られるものである請求項 22 記載の食塩味増強飲食品。

【請求項 24】 酸性ペプチドが、蛋白質を加水分解処理および脱アミド処理して得られるものである請求項 22 記載の食塩味増強飲食品。

【請求項 25】 塩基性物質を添加する請求項 22～24 のいずれかに記載の飲食品の食塩味増強飲食品。

【請求項 26】 塩基性物質が、塩基性アミノ酸またはコリンである請求項 25 記載の食塩味増強飲食品。

【請求項 27】 塩基性アミノ酸が、アルギニン、リジンまたはオルニチンである請求項 26 記載の食塩味増強飲食品。

【請求項 28】 コハク酸を添加する請求項 22～27 のいずれかに記載の飲食品の食塩味増強飲食品。

【請求項 2 9】 酸性ペプチドを含有する食塩味増強剤を添加した食塩含有飲食品。

【請求項 3 0】 酸性ペプチドが、蛋白質を加水分解処理して得られるものである請求項 2 9 記載の食塩含有飲食品。

【請求項 3 1】 酸性ペプチドが、蛋白質を加水分解処理および脱アミド処理して得られるものである請求項 2 9 記載の食塩含有飲食品。

【請求項 3 2】 塩基性物質を添加する請求項 2 9 ～ 3 1 のいずれか記載の飲食品の食塩含有飲食品。

【請求項 3 3】 塩基性物質が、塩基性アミノ酸またはコリンである請求項 3 2 記載の食塩含有飲食品。

【請求項 3 4】 塩基性アミノ酸が、アルギニン、リジンまたはオルニチンである請求項 3 3 記載の食塩含有飲食品。

【請求項 3 5】 コハク酸を添加する請求項 2 9 ～ 3 4 のいずれかに記載の飲食品の食塩含有飲食品。

【発明の詳細な説明】

【0 0 0 1】

【発明の属する技術分野】

本発明は、食塩を含有する飲食品の食塩味増強方法並びにそれに用いる食塩味増強剤および食塩味調味料に関する。また、該方法で得られる減塩飲食品に関する。

【0 0 0 2】

【従来の技術】

食塩（塩化ナトリウム）は、飲食品の調味や加工において、飲食品への味の賦与、飲食品の保存性の向上、飲食品の物性の改善等の重要な役割を果たしている。特に食塩は、おいしいと感じさせる味（食塩味）を飲食品に与え、その構成成分であるナトリウムと塩素は人体の必須栄養素である。

【0 0 0 3】

しかしながら、食塩、特にナトリウムの過剰摂取は、多数の健康問題、例えば高血圧等の心臓病や血管系疾患の危険因子となると考えられている。日本だけで

なく先進諸国では、これらの疾患に罹り易い高齢者層の増加に伴い、食塩、特にナトリウムの摂取量の減少が強く望まれている。

食塩摂取量の減少のためには、飲食品の調味や加工において食塩の使用量を減少させることがもっとも単純な方法である。しかし、一般に食塩味が好ましいと感ずる飲食品に含まれる食塩量を10%以上減少させると、その飲食品の美味しさは損なわれ、家庭料理であれ、加工飲食品であれ、好まれない。

#### 【0004】

食塩味を損なうことなく食塩、特にナトリウムの摂取量を減少する方法、即ち一般に減塩方法と呼ばれているものとしては、それ自身食塩味を呈する物質（以下、食塩代替物質という。）を使用する方法と、それ自身食塩味を呈することはないが、食塩と共存させることによりその食塩味を増強する物質（以下、食塩味増強物質という。）を使用する方法等が知られている。

#### 【0005】

食塩代替物質としては、例えばカリウム塩、アンモニウム塩、塩基性アミノ酸、塩基性アミノ酸からなるペプチドおよびグルコン酸のアルカリ金属塩等が知られている。

カリウム塩に関しては食塩味の他に苦味を有し特有の後味をもたらす欠点を有する。この問題を解決することを目的とするものとしては、塩基性アミノ酸二塩酸塩、グルタミン酸のカリウム塩またはアンモニウム塩および塩化カリウムからなる組成物や、乳糖ミネラルと塩化カリウムとの混合物や、グリシンエチルエステル塩酸塩またはトリプトファンエチルエステル塩酸塩と塩化カリウムとの組成物や、塩化カリウムとマグネシウム塩を主成分とし更にリジン塩酸塩等を含有する組成物や、塩化カリウム、食塩およびクエン酸塩からなりナトリウム／カリウム比が1以下である組成物等が知られている。

#### 【0006】

アンモニウム塩に関しては、例えばカリウム塩、アンモニウム塩および酸性コリン塩を含有する組成物や、食塩およびカプセル化されたアンモニウム塩を含有する組成物等が知られている。

塩基性アミノ酸に関しては、例えばリジニコハク酸塩、リジニコハク酸1水塩

またはオルニチンアジピン酸一水塩を含有する組成物や、塩基性アミノ酸のコハク酸塩を含有する組成物や、塩基性アミノ酸塩酸塩、5'-ヌクレオチド、甘味成分およびクエン酸ナトリウムを含有する組成物や、リジンコハク酸塩等を含有する組成物等が知られている。

## 【0007】

塩基性アミノ酸からなるペプチドとしては、例えばオルニチル- $\beta$ -アラニン、リジルグリシン、オルニチルグリシン、オルニチルタウリンおよびリジルトウリン等が知られている。

また、グルコン酸のアルカリ金属塩としては、グルコン酸のカリウム塩等が知られている。

## 【0008】

食塩味増強物質は、食塩を代替することはできないが、食塩の食塩味を増強することにより食塩の使用量を減少させ、減塩を可能とする物質である。

食塩味増強物質としては、例えば分子量が50,000ダルトン以下のコラーゲンを加水分解して得られるペプチド（特開昭60-3766号）、甘味蛋白質であるソーマチン（特開昭63-137658号）、クエン酸生産能を有する黒麹菌で製麹した黒麹および黄麹菌で製麹した黄麹の混合物を消化分解して得られる分解液（特開平2-53456号）、陽イオン性界面活性剤であるセチルピリジウム塩単独またはセチルピリジウム塩とアルギニンやリジン等の塩基性アミノ酸との混合物（特表平3-502517号）、炭素数3～8の飽和脂肪族モノカルボン酸（特開平5-184326号）、塩基性アミノ酸であるアルギニンと酸性アミノ酸であるアスパラギン酸との等モル混合物（米国特許5,145,707）、卵白蛋白質、ゼラチン、大豆蛋白質、小麦蛋白質、コーン蛋白質、魚蛋白質、乳蛋白質または肉蛋白質等の蛋白質加水分解物（特開平7-289197号）、トレハロース（特開平10-66540号）等が知られている。

## 【0009】

蛋白質酵素分解物が食塩味増強作用を有することは、上記の特開昭60-3766号および特開平7-289197号に記載されている。特開昭60-3766号には、コラーゲン加水分解物が食塩味増強作用を有するが、この作用はコラ



ーゲン加水分解物に特有の性質であり、大豆蛋白質や乳蛋白質の加水分解物にはないと記載されている。

#### 【0010】

前述の特開平 7-289197 号には、食塩味増強物質として蛋白質加水分解物を用いることが開示されているが、本発明の食塩味増強作用の活性成分は蛋白質の加水分解で生じるアルギニンおよびリジン等の遊離の塩基性アミノ酸であることが記載されている。

ペプチドの味に関しては数多くの研究がある。大豆分離蛋白質のペプシン分解物をキモトリプシンで処理したプラステイン反応生成物から、旨味を有するペプチドとしてグルタミン酸またはアスパラギン酸を含むジペプチドおよびトリペプチドが分離されている [Agr. Biol. Chem., 36, 1253 (1972)]。この結果は合成ペプチドを用いて確認されている [Agr. Biol. Chem., 37, 151 (1973)]。魚肉蛋白質濃縮物の酵素分解物から分子量 1,000 以下のペプチドが分画され、それは更にイオン交換樹脂を用いて、酸性、中性および塩基性のペプチドに分画され、酸性のオリゴペプチド画分が旨味を有していることが明らかにされている [Agr. Biol. Chem., 37, 2891 (1973)]。さらに、この酸性オリゴペプチド画分の構成ペプチドが同定されている [J. Agric. Food. Chem., 23, 49 (1975)]。

#### 【0011】

低分子量の酸性ペプチドが食塩味を有するとのいくつかの報告がある。デリシャスペプチドは牛肉のスープから発見された 8 個のアミノ酸からなる旨味ペプチドである。このペプチドの構造活性相関の研究の中で、塩基性のジペプチドと酸性のジペプチドとが食塩味を有することが見出されている [Agr. Biol. Chem., 53, 319 (1989)]。また、これらの酸性ペプチドおよび類似の酸性ペプチドとして、アスパラギン酸および／またはグルタミン酸からなる 4 種類のジペプチドおよび 8 種類のトリペプチドが旨味と共に食塩味を有することが明らかにされ、更に、デリシャスペプチドの構成部分ペプチドである 5 個のアミノ酸からなる酸性ペプチドも食塩味を有することが報告されている [Biosci. Biotech. Biochem., 59, 689 (1995)]。

## 【0012】

蛋白質の酵素分解物中のペプチドが食塩味を有するとの報告もある。小麦蛋白質であるグルテンを蛋白質分解酵素アクチナーゼで処理し、さらにこの分解物を塩酸で脱アミドした後、分画して得た分子量500～1,000の画分が、甘味、酸味、苦味、収斂味および旨味と共に、食塩味を有することが報告されている。しかし、この画分を煮干だし汁に添加すると、旨味のみが有意に強くなるが、甘味や食塩味などの他の味には有意差は認められないことが報告されている〔日本家政学会誌, 45, 615- (1994) 〕。

## 【0013】

大豆蛋白質の酵素分解物から旨味ペプチドとして酸性ペプチドが分離され、その内のいくつかのペプチドは単独またはイノシン酸の存在下で食塩味を呈することが報告されている〔Biosci. Biotech. Biochem., 63, 555 (1999) 〕。

また、酸性ペプチドがペプチドの苦味をマスキングするとの報告がある〔J. Food Sci., 40, 367 (1975) 〕。

## 【0014】

このように、ペプチドやその中の酸性ペプチドについてもそれら自身の呈味性や、それらが旨味、苦味等の他の味に及ぼす影響について数多くの研究があり、またペプチドは旨味や食塩味等を有し、苦味をマスキングすることが明らかになっている。しかし、蛋白質を加水分解処理および／または脱アミド処理して得られるペプチドを主成分とする蛋白質酵素分解物が食塩の食塩味を増強することは知られていない。食塩味を有するペプチドの食塩味増強作用に関して、食塩とオルニチルーβ-アラニンの混合溶液の食塩味の強さを評価したところ、それぞれの食塩味は独立に発現して混合溶液の食塩味の強さは相加性を示し、相乗作用はないこと、即ち、オルニチルーβ-アラニンに食塩の食塩味を増強する作用はないことが明らかにされている〔J. Agric. Food. Chem., 38, 25 (1990) 〕。

## 【0015】

以上のように、酸性ペプチドが食塩味増強作用を有するとの開示も示唆もない。また、市販されている蛋白質を酵素分解して得られた調味料や栄養食品素材等の酵素加水分解物は食塩味増強作用を有していない。

【 0 0 1 6 】

【発明が解決しようとする課題】

本発明の目的は、食塩を含有する飲食品の食塩味増強方法並びにそれに用いる食塩味増強剤および食塩味調味料を提供することである。また、該方法で得られる減塩飲食品を提供することである。

【 0 0 1 7 】

【発明が解決しようとする課題】

本発明の目的は、食塩を含有する飲食品の食塩味増強方法並びにそれに用いる食塩味増強剤および食塩味調味料を提供することである。また、該方法で得られる減塩飲食品を提供することである。

【 0 0 1 8 】

【課題を解決するための手段】

本発明者は、酸性ペプチドはそれ自身が食塩味を有しないが、食塩の有する食塩味を強める作用（以下、食塩味増強作用という）があることを見出して本発明を完成した。

本発明は、下記（１）～（３５）に関する。

【 0 0 1 9 】

（１） 食塩含有飲食品に、酸性ペプチドを添加することを特徴とする飲食品の食塩味増強法。

（２） 酸性ペプチドが、蛋白質を加水分解処理して得られるものである（１）記載の食塩味増強法。

（３） 酸性ペプチドが、蛋白質を加水分解処理および脱アミド処理して得られるものである（１）記載の食塩味増強法。

【 0 0 2 0 】

（４） 塩基性物質を添加する（１）～（３）のいずれか記載の飲食品の食塩味増強法。

（５） 塩基性物質が、塩基性アミノ酸またはコリンである（４）記載の食塩味増強法。

（６） 塩基性アミノ酸が、アルギニン、リジンまたはオルニチンである（

5) 記載の食塩味増強法。

【0021】

(7) コハク酸を添加する(1)～(6)のいずれかに記載の飲食品の食塩味増強法。

(8) 酸性ペプチドを有効成分とする食塩味増強剤。

(9) 酸性ペプチドが、蛋白質を加水分解処理して得られるものである(

8) 記載の食塩味増強剤。

【0022】

(10) 酸性ペプチドが、蛋白質を加水分解処理および脱アミド処理して得られるものである(8) 記載の食塩味増強剤。

(11) 塩基性物質を添加する(8)～(10)のいずれかに記載の飲食品の食塩味増強剤。

(12) 塩基性物質が、塩基性アミノ酸またはコリンである(11) 記載の食塩味増強剤。

【0023】

(13) 塩基性アミノ酸が、アルギニン、リジンまたはオルニチンである(12) 記載の食塩味増強剤。

(14) コハク酸を添加する(8)～(13)のいずれかに記載の飲食品の食塩味増強剤。

(15) 酸性ペプチドと食塩を含有する食塩味調味料。

【0024】

(16) 酸性ペプチドが、蛋白質を加水分解処理して得られるものである(15) 記載の食塩味調味料。

(17) 酸性ペプチドが、蛋白質を加水分解処理および脱アミド処理して得られるものである(15) 記載の食塩味調味料。

(18) 塩基性物質を添加する(15)～(17)のいずれかに記載の飲食品の食塩味調味料。

【0025】

(19) 塩基性物質が、塩基性アミノ酸またはコリンである(18) 記載

の食塩味調味料。

(20) 塩基性アミノ酸が、アルギニン、リジンまたはオルニチンである  
(19) 記載の食塩味調味料。

(21) コハク酸を添加する(15)～(20)のいずれかに記載の飲食品の食塩味調味料。

【0026】

(22) 酸性ペプチドと食塩を含有する食塩味調味料で味付けされた食塩味増強飲食品。

(23) 酸性ペプチドが、蛋白質を加水分解処理して得られるものである  
(22) 記載の食塩味増強飲食品。

(24) 酸性ペプチドが、蛋白質を加水分解処理および脱アミド処理して得られるものである(22) 記載の食塩味増強飲食品。

【0027】

(25) 塩基性物質を添加する(22)～(24)のいずれかに記載の飲食品の食塩味増強飲食品。

(26) 塩基性物質が、塩基性アミノ酸またはコリンである(25) 記載の食塩味増強飲食品。

(27) 塩基性アミノ酸が、アルギニン、リジンまたはオルニチンである  
(26) 記載の食塩味増強飲食品。

【0028】

(28) コハク酸を添加する(22)～(27)のいずれかに記載の飲食品の食塩味増強飲食品。

(29) 酸性ペプチドを含有する食塩味増強剤を添加した食塩含有飲食品。

(30) 酸性ペプチドが、蛋白質を加水分解処理して得られるものである  
(29) 記載の食塩含有飲食品。

【0029】

(31) 酸性ペプチドが、蛋白質を加水分解処理および脱アミド処理して得られるものである(29) 記載の食塩含有飲食品。

(32) 塩基性物質を添加する(29)～(31)のいずれか記載の飲食品の食塩含有飲食品。

(33) 塩基性物質が、塩基性アミノ酸またはコリンである(32)記載の食塩含有飲食品。

【0030】

(34) 塩基性アミノ酸が、アルギニン、リジンまたはオルニチンである(33)記載の食塩含有飲食品。

(35) ~~コハク酸を添加する(29)～(34)のいずれかに記載の飲食品の食塩含有飲食品。~~

【0031】

【発明の実施の形態】

本発明において酸性ペプチドとは、ペプチドを構成するアミノ酸中の酸性アミノ酸数が塩基性アミノ酸数よりも多いペプチドをいう。酸性アミノ酸とは、アスパラギン酸およびグルタミン酸をいい、塩基性アミノ酸とは、リジン、アルギニンおよびヒスチジンをいう。酸性ペプチド中の酸性アミノ酸数としては、全アミノ酸数の20～100%が好ましく、30～100%がより好ましく、40～100%が特に好ましい。

【0032】

酸性ペプチドの分子量は、400～30,000が好ましく、500～30,000がより好ましく、600～15,000が特に好ましい。ペプチド鎖長は、4～300が好ましく、5～300がより好ましく、6～300が特に好ましい。

酸性ペプチドは、合成により得ることもできるが、蛋白質をエンド型に加水分解し、必要に応じてさらに脱アミド処理する工程を含む蛋白質の分解処理により得ることもできる。

【0033】

分解処理に供する蛋白質のアミノ酸組成が、酸性アミノ酸数が塩基性アミノ酸数よりも多い蛋白質のときは、該蛋白質を加水分解する工程を含む処理方法で処理することにより酸性ペプチドを得ることができる。

また分解処理に供する蛋白質のアミノ酸組成が、酸性アミノ酸数とアミド数の総数が塩基性アミノ酸数よりも多い蛋白質のときは、蛋白質を加水分解する工程に加え脱アミド処理工程を含む処理方法で処理することにより酸性ペプチド得ることができる。脱アミド処理工程により、蛋白質中のアスパラギンおよびグルタミン残基がアスパラギン酸およびグルタミン酸残基となる。

【 0 0 3 4 】

また、酸性アミノ酸数または酸性アミノ酸数とアミド数の総数が塩基性アミノ酸数よりも少ない蛋白質でも、加水分解することにより、本発明の酸性ペプチドが生成される場合もあり、これも本発明の酸性ペプチドとして用いることができる。

本発明の酸性ペプチドを得るため供せられる蛋白質としては、例えば小麦グルテン、コーン蛋白質および分離大豆蛋白質等の植物蛋白質、ミルクカゼインおよびミルクホエイ蛋白質等の乳蛋白質、畜肉蛋白質および魚肉蛋白質等の肉蛋白質、卵白蛋白質またはコラーゲン等があげられる。

【 0 0 3 5 】

蛋白質のアミノ酸組成で、酸性アミノ酸数が塩基性アミノ酸数よりも多い蛋白質としては、例えば大豆蛋白質等があげられる。蛋白質のアミノ酸組成で、酸性アミノ酸数とアミド数の総数が塩基性アミノ酸数よりも多い蛋白質としては、例えば小麦蛋白質等があげられる。

蛋白質の加水分解処理は、酸、アルカリ等を用いる化学処理方法または蛋白質加水分解酵素を用いる酵素処理方法等により行うことができるが、酵素処理法で行うのが好ましい。

【 0 0 3 6 】

蛋白質加水分解酵素としては、プロテイナーゼ（エンドペプチダーゼ）を用いることが好ましく、例えばトリプシン、キモトリプシン、ズブチリシン等のセリンプロテアーゼ、パパイン、プロメライン、フィシン等のチオールプロテアーゼ、ペプシン、キモシン等のカルボキシルプロテアーゼ、サーモリシン等のメタルプロテアーゼ等があげられる。

【 0 0 3 7 】

エンドペプチダーゼとして市販されているものとしては、例えばペプシン（シグマ社製）、マルチフェクト P-3000（協和エンザイム社製）、プロテアーゼ N「アマノ」（天野製薬社製）、アルカラゼ（ノボ社製）等があげられる。

蛋白質の加水分解に使用する酵素としては、エンドペプチダーゼ活性を有するものであればエキソペプチダーゼ活性を有していてもよい。エキソペプチダーゼの作用により遊離のアミノ酸や低分子のペプチドが多く生成し、分解物の食塩味増強作用は低下するが、遊離のアミノ酸や低分子のペプチドに由来する旨味が生成するので好ましい場合がある。エンドペプチダーゼ活性の他にエキソペプチダーゼ活性を有する酵素としては、例えばスミチーム MP（新日本化学社製）やアクチナーゼ（科研製薬社製）があげられる。

#### 【0038】

これら蛋白質加水分解酵素の使用量は使用する酵素と蛋白質の種類等により異なるが、加水分解処理する蛋白質の 0.05～8 重量%が好ましく、0.1～6 重量%がより好ましく、1～4 重量%が特に好ましい。蛋白質の加水分解反応の pH や反応温度は、使用する酵素の最適条件またはそれに近い条件を採用する事が出来る。これらの反応条件は、最終的には得られる加水分解物の食塩味増強作用や味質を考慮して決定する。使用量、反応 pH、反応温度、安定性等の情報は酵素供給者から入手できる。pH の調整は、塩酸、酢酸、乳酸、クエン酸またはリン酸のような任意の適当な飲食品に許容しうる酸、または水酸化ナトリウム、水酸化カリウムのような任意の適当な飲食品に許容しうるアルカリにより行うことができる。蛋白質の加水分解処理時間は、使用する蛋白質加水分解酵素、その使用量、温度、pH 条件等で異なるが、1～100 時間が好ましく、6～72 時間がより好ましく、24～48 時間が特に好ましい。加水分解処理終了後反応液をそのまま次の反応に供することもできるが、加熱処理や酸処理により酵素を失活させた後に次の処理に供することもできる。

#### 【0039】

次に脱アミド処理工程について説明する。脱アミド処理方法としては化学的方法と酵素を用いる処理方法があげられる。脱アミド処理反応は、前述の蛋白質加



水分解処理前に行うこともできるし、蛋白質加水分解処理後に行うこともできる。また、蛋白質加水分解処理と同時に行うこともできる。

化学的な脱アミド方法は、公知の方法を用いることができる。一般的には蛋白質を酸で加熱処理する。酸としては、塩酸、硫酸等の無機酸および酢酸、乳酸等のは有機酸があげられ、高い脱アミド率を目的とする場合には塩酸を使用するのが好ましい。塩酸を使用する脱アミド反応は、例えば、塩酸濃度は0.1~0.7 mol/L、温度は50~125℃、加熱時間は10~180分で行うことができる。

#### 【0040】

具体的方法としては、例えばFood Technol., 15(3), 141 (1961)、J. Food Sci., 40, 1283 (1975)、J. Agric. Food Chem., 24, 504 (1974)、日本農芸化学会誌、55, 983 (1981)およびAgric. Biol. Chem., 49, 1251 (1985)等に記載の方法があげられる。

酸で脱アミド反応を行った場合には、中和が必要である。この場合の中和剤としては、水酸化ナトリウムが一般的であるが、目的とする食塩味増強剤がナトリウムを含まないことを望むのであれば、他の飲食品加工に使用されるアルカリ剤、例えば水酸化カリウムでもよい。遊離の塩基性物質を中和剤の一部または全部に使用することもできる。遊離の塩基性物質としては、例えばアルギニン、リジン等の塩基性アミノ酸があげられる。

#### 【0041】

酵素による脱アミド反応は公知の方法で行うことができる。第一の方法として、エンドペプチダーゼを用いる加水分解反応を用いる方法があげられる。本反応では、ペプチド結合の分解とともに脱アミド反応が進行する。使用する酵素としては、例えばパパイン、トリプシン、パンクレアチン、アルカラーゼ（ノボ社製）、プロナーゼ（科研化学製）等があげられる。反応は、例えばpHは8~11、温度は10~75℃、反応時間は6~48時間で行うことができる。

#### 【0042】

具体的方法としては、例えばAgric. Biol. Chem., 50, 1989 (1986)、J. Agric. Food Chem., 35, 224 (1987)、J. Agric. Food Chem., 35, 285 (1987)

)、J. Food Sci., 55, 127 (1990) および特開平 3-91445 号公報等に記載の方法があげられる。

第二の酵素的な方法として、ペプチド中のグルタミンのアミド結合を加水分解するペプチドグルタミナーゼ [Biochemistry, 10, 1222 (1971)] を使用する方法があげられる。この方法により、より高い脱アミド率が得られる。ペプチドグルタミナーゼでの処理は、蛋白質を加熱処理した後、または蛋白質を酵素により加水分解処理した後に行うと効率を向上させることができるので好ましい [J. Food Sci., 53, 1132 (1988)、J. Food Sci., 54, 598 (1989)、JAACS, 68, 459 (1991) および J. Agric. Food Chem., 40, 719 (1992)]。

#### 【0043】

蛋白質の脱アミド処理とそれに続く加水分解処理、あるいは加水分解処理とそれに続く脱アミド処理は、文献記載の方法 [J. Cereal Sci., 21, 153 (1994) および日本家政学会誌, 45, 615 (1994)] に従って行うこともできる。

本発明の食塩味増強作用をもつ蛋白質加水分解物を取得するのに必要な脱アミド率は蛋白質中の酸性アミノ酸の含量とアミドの含量により異なるが、20%以上が好ましく、50%以上がより好ましく、80%以上が特に好ましい。

#### 【0044】

加水分解処理および脱アミド処理した溶液は脱色した溶液、それを濃縮した濃厚溶液、それを乾燥した粉末、さらにそれを造粒した顆粒等、いろいろな形態で使用可能である。また、分離精製したペプチドを使用することもできる。分離精製処理としてはクロマトグラフィーや膜分離等を採用できる。

塩基性物質は、蛋白質を加水分解処理および脱アミド処理して得られるペプチドの食塩味増強作用をさらに強化する。該塩基性物質としては、飲食品に添加でき、ペプチドの塩味増強作用を強化するものであれば特に制限が無く、例えば塩基性アミノ酸やコリンがあげられる。塩基性アミノ酸としては、例えばアルギニン、リジン、オルニチン等があげられ、アルギニンが好ましい。

#### 【0045】

塩基性物質の使用量は、蛋白質を加水分解処理および脱アミド処理して得られるペプチド 100g あたり 0.05~0.8 mol が好ましく、0.15~0.

4 m o l がより好ましい。アルギニンを使用する場合は、約 9 ~ 1 4 0 g が好ましく、2 6 ~ 7 0 g がより好ましい。

本発明のペプチドによる食塩味増強作用は、コハク酸によっても強化される。コハク酸は貝特有の味として知られている。コハク酸の使用量は遊離酸または塩として本発明のペプチド 1 0 0 重量部に対し、0. 1 ~ 5 0 重量部が好ましく、1 ~ 3 0 重量部がより好ましい。コハク酸は、コハク酸特有の味が感じられない閾値濃度である 0. 0 2 重量% 以下の濃度でもその効果を発揮する。

【 0 0 4 6 】

本願発明の食塩味増強方法の対象となる飲食品としては、食塩を含有しない飲食品でも食塩を含有する飲食品でも、飲食時に食塩が含まれる食品であれば特に制限はない。飲食品としては、例えば味噌、醤油、たれ、だし、ドレッシング、マヨネーズ、トマトケチャップ等の調味料、お吸い物、コンソメスープ、卵スープ、ワカメスープ、フカヒレスープ、ポタージュ、みそ汁等のスープ類、そば、うどん、ラーメン、パスタ等の麺パスタ類のつゆ、スープ、ソース類、おかゆ、雑炊、お茶漬け等の米調理食品、ハム、ソーセージ、チーズ等の畜産加工品、かまぼこ、干物、塩辛、珍味等の水産加工品、漬物等の野菜加工品、ポテトチップス、煎餅、クッキー等の菓子スナック類、煮物、揚げ物、焼き物、カレー等の調理食品等があげられる。

【 0 0 4 7 】

本願発明の食塩味増強剤は、蛋白質を加水分解処理および脱アミド処理して得られるペプチドを含有し、必要に応じて塩基性物質および／またはコハク酸を含有し、さらに必要に応じて無機塩、酸、アミノ酸類、核酸、糖類、賦形剤等の飲食品に使用可能な各種添加物を含有していてもよい。

また本発明の、食塩味調味料は、蛋白質を加水分解処理および脱アミド処理して得られるペプチドおよび食塩を含有し、必要に応じて塩基性物質および／またはコハク酸を含有し、さらに必要に応じて調味料、香辛料、無機塩、酸、アミノ酸類、核酸、糖類、賦形剤等の飲食品に使用可能な各種添加物を含有していてもよい。

【 0 0 4 8 】

無機塩としては、食塩、塩化カリウム、塩化アンモニウム等があげられる。酸としては、アスコルビン酸、フマル酸、リンゴ酸、酒石酸、クエン酸、脂肪酸等のカルボン酸およびそれらの塩等があげられる。該塩としては、ナトリウムおよびカリウム塩があげられる。アミノ酸としては、グルタミン酸ナトリウム、グリシン等があげられる。核酸としてはイノシン酸ナトリウム、グアニル酸ナトリウム等があげられる。糖類としては、ショ糖、ブドウ糖、乳糖等があげられる。調味料としては醤油、味噌、エキス等の天然調味料、香辛料としては各種の香辛料があげられる。賦形剤としては澱粉加水分解物であるデキストリン、各種澱粉等があげられる。これらの使用量は、使用目的に応じて適宜設定することができるが、例えばペプチド100重量部に対して0.1～500重量部使用できる。

#### 【0049】

本願発明の減塩飲食品とは、通常の食塩濃度に比べて食塩濃度が低い濃度の飲食品をいうが、一般には、食塩濃度が通常の食塩濃度の80%以下である飲食品をいう。通常の食塩濃度は、飲食品の種類、製品により異なるが、本願発明で適用される飲食品の食塩濃度は特に制限はない。

飲食品に使用する食塩味増強剤および食塩味調味料の量は、最終的に飲食品に含まれる食塩量に応じて使用する。通常は飲食品中の食塩の100重量部に対し、食塩味増強剤または食塩味調味料中の、蛋白質を加水分解処理および脱アミド処理して得られたペプチド換算で5～300重量部の食塩味増強剤または食塩味調味料を使用するが、20～100重量部の使用が好ましい。

#### 【0050】

以下に本発明で使用する分析法について述べる。

##### 1. 蛋白質およびペプチドの定量法

蛋白質および加水分解物中のペプチドの量は全窒素（T-N）の量より求める。全窒素の定量はキエルダール法により行う。平均ペプチド鎖長を求める際の窒素量としては、全窒素量から下記に述べる方法で測定するアンモニア量を差し引いた値を用いる。蛋白質の量およびペプチド量は全窒素量に換算係数を掛けて求める。換算係数はグルテンでは5.7を用い、他の蛋白質では6.25を用いる。

## 【 0 0 5 1 】

## 2. アミノ態窒素定量法

アミノ態窒素の定量は、トリニトロベンゼンスルホン酸を発色試薬とする比色法 [Agric. Biol. Chem., 50, 1217 (1986)] で行う。低分子のペプチドのみでなく高分子のペプチドも測定対象とするためトリクロロ酢酸による除蛋白質処理は省略する。標準物質としてロイシンを用いる。アンモニウムイオンもトリニトロベンゼンスルホン酸と反応して発色するため、硫酸アンモニウム標準溶液の吸光度と試料中のアンモニウムイオン濃度から、アンモニウムイオンにもとづく吸光度を得て補正し、アミノ態窒素濃度を求める。

## 【 0 0 5 2 】

## 3. アンモニア定量法

アンモニアの定量はデタミナー  $\text{NH}_3$  (協和メデックス社製) を用いる酵素法により行う。

## 【 0 0 5 3 】

## 4. 平均ペプチド長

平均ペプチド長は加水分解物中の全窒素量をアミノ態窒素の量で割って得る。

## 【 0 0 5 4 】

## 5. 脱アミド率

蛋白質中のアミド結合の脱アミド率 (%) は、蛋白質中のアミド態窒素に対する脱アミド反応により生成したアンモニア量の割合で示す。蛋白質中のアミド態窒素は約 1 g の蛋白質を正確に秤量し、これを 50 mL の 2 N 塩酸中で、120℃で30分間加熱した後、生成するアンモニアを測定して求める。

## 【 0 0 5 5 】

## 6. アミノ酸分析法

遊離アミノ酸はそのまま、蛋白質およびその加水分解物中のペプチドのアミノ酸は塩酸分解後、アミノ酸自動分析計で行う。

## 【 0 0 5 6 】

## 7. 食塩濃度測定法

酵素加水分解処理および脱アミド処理に使用した水酸化ナトリウムの量と原料

由来のナトリウムの量から酵素加水分解物中のナトリウム濃度を計算により求め、食塩濃度とする（計算法）。また、ナトリウムイオン選択電極（メトラートレド社製）により測定する（電極法）。

【0057】

#### 8. 食塩味増強作用評価法 1

食塩濃度を  $0.100 \text{ mol/L}$  に調整した試験物質溶液の食塩味を、 $0.100 \text{ mol/L}$  ( $0.58\%$ )、 $0.125 \text{ mol/L}$  ( $0.73\%$ )、 $0.150 \text{ mol/L}$  ( $0.88\%$ )、 $0.175 \text{ mol/L}$  ( $1.02\%$ ) および  $0.200 \text{ mol/L}$  ( $1.17\%$ ) の食塩標準溶液の食塩味と比較し、どの食塩標準溶液の食塩味と同じかまたは近いのか、パネルにより第 1 表に示す評点法で食塩味増強物質の食塩味増強作用を評価する。パネルは飲食品の調味の専門家とする。

【0058】

【表 1】

第 1 表

試験物質溶液の食塩味	評点
$0.100 \text{ mol/L}$ 食塩溶液と同じか、それに近い。	0
$0.100 \text{ mol/L}$ 食塩溶液と $0.125 \text{ mol/L}$ 食塩溶液の間と同じか、それに近い。	1
$0.125 \text{ mol/L}$ 食塩溶液と同じか、それに近い。	2
$0.125 \text{ mol/L}$ 食塩溶液と $0.150 \text{ mol/L}$ 食塩溶液の間と同じか、それに近い。	3
$0.150 \text{ mol/L}$ 食塩溶液と同じか、それに近い。	4
$0.150 \text{ mol/L}$ 食塩溶液と $0.175 \text{ mol/L}$ 食塩溶液の間と同じか、それに近い。	5
$0.175 \text{ mol/L}$ 食塩溶液と同じか、それに近い。	6

【0059】

#### 9. 食塩味増強作用評価法 2

食塩濃度を  $0.10 \text{ mol/L}$  に調整した試験物質溶液の食塩味を、 $0.08 \text{ mol/L}$ 、 $0.10 \text{ mol/L}$ 、 $0.12 \text{ mol/L}$ 、 $0.14 \text{ mol/L}$  お

よび  $0.16 \text{ mol/L}$  の食塩標準溶液の食塩味（恒常刺激にあたる）と比較し、どちらの食塩味が強いかわかる不等号または等号で表わす。それぞれの標準食塩濃度について、標準溶液の食塩味を強いとしたパネルメンバーの全パネルメンバーに対する割合（以下、この割合を判断出現率という）と標準溶液の食塩味を弱いとしたパネルメンバーの全パネルメンバーに対する割合を求め、これらの数値を横軸の標準食塩濃度（恒常刺激の強さ）に対して正規確率紙にプロットし、試験物質が強い割合と弱い割合についてそれぞれ直線を引く。この2本の直線上で50%の判断出現率に対する2点の濃度の中間値が試験物質溶液の等価食塩濃度であるとする。等価濃度は2本の直線の交点またはその近傍の濃度として得られる（佐藤信著、「統計的官能検査法」、第2版、304頁、1995年、日科技連出版社）。

【0060】

以下に本発明の実施例を示す。

【0061】

【実施例】

【0062】

#### 実施例 1

小麦グルテン粉末  $134 \text{ g}$ （ $\text{T-N} : 118 \text{ mg/g}$ 、アミド態窒素： $1.8 \text{ mmol/g}$ 、ウェストンフーズ社製）を  $0.6 \text{ mol/L}$  塩酸  $866 \text{ mL}$  に分散させ、オートクレーブ中  $120^\circ\text{C}$  で2時間加熱し、脱アミドされたグルテン分散液  $910 \text{ mL}$  を得た。この分散液の  $\text{pH}$  を  $2 \text{ mol/L}$  水酸化ナトリウムで  $8.0$  に調整した後、蛋白質分解酵素マルチフェクト P-3000（協和エンザイム社製） $6 \text{ mL}$  を加えて、 $40^\circ\text{C}$  で20時間、加水分解反応を行なった。反応中、 $\text{pH}$  を  $2 \text{ mol/L}$  水酸化ナトリウムで  $8.0$  に調整した。反応後、加水分解液に  $2 \text{ mol/L}$  塩酸を加えて  $\text{pH}$  を  $6.0$  に調整した後、 $80^\circ\text{C}$  で20分間加熱し酵素を失活させ、活性炭  $10 \text{ g}$  を添加して脱色し、濾過して、小麦グルテンを加水分解処理および脱アミド処理して得られるペプチドを有効成分とする食塩味増強作用を有するグルテン分解液  $1200 \text{ mL}$  を得た。この分解液の窒素濃度は  $12.8 \text{ mg/g}$ 、食塩濃度は  $0.505 \text{ mol/L}$  であった。

## 【0063】

得られた分解液を用いて、第2表に示すように評価液を調製した。評価液中のペプチド濃度は分解液の1/10倍となっており、食塩濃度は0.1mol/Lに調整されている。

## 【0064】

## 【表2】

## 第 2 表

実施例1の部分加水分解液 (NaCl: 0.505mol/L)  
の評価液組成

分解液 (ml)	1mol/L NaCl (ml)	水 (ml)	合計 (ml)
100	50	850	1000

## 【0065】

この溶液の食塩味増強作用を食塩味増強作用評価法1に従って評価したところ、評価液の食塩味は食塩濃度0.125mol/Lにほぼ等しく評点2であった。

食塩味増強作用評価法2で評価液の食塩味増強作用を評価したところ、等価食塩濃度は0.129mol/Lであった。

## 【0066】

また、従来技術の中で食塩味増強作用並びに味質の点から比較的评价の高いアルギニンとアスパラギン酸の等モル混合物（米国特許5,145,707号）を試験した。すなわち、0.1mol/L食塩、0.02mol/Lアルギニン、0.02mol/Lアスパラギン酸溶液を調製し等価食塩濃度を評価した結果は、0.125mol/Lであった。

## 【0067】

評価液中のアルギニン濃度は0.012g/L、リジン濃度は0.007g/L、アスパラギン酸濃度は0.148g/Lであった。そこで、0.1mol/L食塩、0.012g/Lアルギニン、0.007g/Lリジン、0.148g



／L アスパラギン酸の混合物の等価食塩濃度を評価した結果は 0.100 mol／L であった。

【0068】

## 実施例 2

小麦グルテン粉末 134 g を実施例 1 と同様に処理して脱アミド処理されたグルテン分散液 910 mL を得た。この分散液にアルギニン 42 g を加え、以降の処理は実施例 1 と同様に行い、蛋白質を加水分解処理および脱アミド処理して得られるペプチドとアルギニンを有効成分とする食塩味増強作用を有するグルテン分解液 1100 mL を得た。この分解液の食塩濃度は 0.351 mol／L であり、分解液の遊離アミノ酸の分析結果からアルギニン濃度は 34.2 g／L であり、アルギニンを除く窒素量は 14.0 g／L であった。

【0069】

得られた分解物を用いて、第 3 表に示すように評価液を調製した。評価液中のペプチド濃度は分解物の 1／10 倍となっており、食塩濃度は 0.1 mol／L に調整されている。

【0070】

【表 3】

第 3 表

実施例 2 の部分加水分解液 (NaCl : 0.351 mol／L) の評価液組成

分解液 (ml)	1 mol／L NaCl (ml)	水 (ml)	合計 (ml)
100	65	835	1000

【0071】

この溶液の食塩味増強作用を食塩味増強作用評価法 1 で評価したところ、10 倍希釈液の食塩味は食塩濃度 0.15 mol／L とほぼ同じで評点 4 であった。

評価法 2 に従って評価したところ、評価液の等価食塩濃度は 0.149 mol／L であった。

本分解液とアルギニンを組合わせることによって食塩味増強作用が（分解液単独では、 $0.1\text{ mol/L}$ の食塩の食塩味が $0.125\text{ mol/L}$ に上昇したことから、 $0.025$ 量を1倍として比較すると）、アルギニンを使用することにより約2倍に上昇した。

## 【0072】

なお、等価食塩濃度が $0.125\text{ mol/L}$ である、 $0.1\text{ mol/L}$ 食塩、 $0.02\text{ mol/L}$ アルギニン、 $0.02\text{ mol/L}$ アスパラギン酸からなる溶液のアルギニン濃度は $3.48\text{ g/L}$ であり、本評価液中のアルギニン濃度（ $3.42\text{ g/L}$ ）と殆ど同じである。このことから、評価液中の小麦グルテンを加水分解処理および脱アミド処理して得られるペプチドはアルギニンが食塩味増強作用を発現する際にアスパラギン酸よりもはるかに優れていることを示している。

## 【0073】

また、アルギニン塩酸塩の食塩味増強作用の強さはアルギニンとアスパラギン酸の混合物の持つ強さの約半分であった。評価法1と評価法2の結果は一致していた。

## 【0074】

## 実施例3

小麦グルテン（T-N： $118\text{ mg/g}$ 、アミド態窒素： $1.88\text{ mmol/g}$ 、ウェストンフーズ製品） $67\text{ g}$ 、分離大豆蛋白質（T-N： $132\text{ mg/g}$ 、アミド態窒素： $0.958\text{ mmol/g}$ 、不二製油社製） $60\text{ g}$ 、カゼイン（T-N： $133\text{ mg/g}$ 、アミド態窒素： $0.785\text{ mmol/g}$ 、シグマ社製） $50\text{ g}$ およびツエイン（T-N： $135\text{ mg/g}$ 、アミド態窒素： $1.62\text{ mmol/g}$ 、シグマ社製） $50\text{ g}$ をそれぞれ $0.6\text{ mol/L}$ 塩酸 $433\text{ mL}$ 、 $440\text{ mL}$ 、 $450\text{ mL}$ および $450\text{ mL}$ に分散し、オートクレーブ中、 $120^\circ\text{C}$ で120分間加熱して脱アミド処理を行った。脱アミド率はグルテンと分離大豆蛋白質がそれぞれ約90%、カゼインとツエインがそれぞれ約100%であった。反応液を $50^\circ\text{C}$ まで冷却後、それぞれの反応液を $6\text{ mol/L}$ 水酸化ナトリウムでpH8.0に調整した後、蛋白質分解酵素アルカラゼ（ノボ社製） $1\text{ m}$

Lを加え、50℃で20時間、加水分解処理を行った。反応中、pHを6mol/L水酸化ナトリウムで8.0に維持した。分解反応後、6mol/L塩酸でpHを6.0に合わせ、85～90℃で20分間加熱して酵素を失活させた後、遠心分離と、上清に濁りがある場合には濾過を行って透明な分解液をそれぞれ415mL、415mL、498mLおよび452mL取得した。全窒素濃度はそれぞれ、16.27mg/mL、14.91mg/mL、12.70mg/mLおよび10.99mg/mLで、食塩濃度はそれぞれ0.704mol/L、0.774mol/L、0.732mol/Lおよび0.690mol/Lであった。

## 【0075】

それぞれ、食塩濃度が0.1mol/Lになるよう食塩を添加して調整した、分解液の20倍希釈液を評価液として、その食塩味増強作用を評価法1で評価したところ、評価液の評点はそれぞれ2であった。

次にアルギニンを使用した場合の食塩味増強作用を評価法1で評価した。評価液として食塩濃度を0.1mol/Lに調整した20倍希釈液を用い、アルギニンとしてアルギニン塩酸塩を用いて評価液中のアルギニン濃度を0.012mol/L (2.09g/L) としたものをを用いた。それぞれ、アルギニン塩酸塩を使用した分解液の評点は4であった。評価液中の蛋白質濃度に差があり、従って蛋白質に対するアルギニンの量にも差があり、食塩味増強作用の強さは正確には比較できないが、この結果から広範囲の蛋白質を加水分解処理および脱アミド処理して得られるペプチドが食塩味増強作用を持ち、アルギニンでその作用がさらに増強することが示された。

## 【0076】

蛋白質を分解して得られるペプチドが食塩味増強作用を有し、この食塩味増強作用がアミド結合の分解から生じたアンモニウム塩と酸処理や酵素分解から生じた遊離アミノ酸によるものでないことを確認するため、分解物を高架橋度強酸性陽イオン交換樹脂で処理し、分解液中のアンモニウムイオンと遊離アミノ酸ならびに一部の低分子量のペプチドを除去した分解液を調製し、この食塩味増強作用を調べた。なお高架橋度強酸性陽イオン交換樹脂としてダイヤイオンSK116

(三菱化学社製)を使用した。

【0077】

分解液からのアンモニウムイオン、遊離アミノ酸および低分子量のペプチドの除去は以下の通り行った。イオン交換樹脂(H型)250mLを充填したカラムに分解液50mLを通塔した後、水を流し、流出液750mLを得た。得られた溶出液を濃縮し、pHを6mol/L水酸化ナトリウムでpH6.5に調整し、水を加えて100mLとした。次にカラムに2mol/Lアンモニアを流し、溶出液750mLを得てそれを濃縮し、2mol/L塩酸でpH6.5に調整し、水を加えて100mLにした。pH調整前のpHは6.5から7.2の範囲であった。流出液と溶出液について、遊離アミノ酸、アンモニア、平均ペプチド長を求めた。第4表に結果を示す。なお流出液と溶出液の濃度は分解液50mLに換算して表示した。

【0078】

【表4】

第 4 表

分解液および流出液の遊離アミノ酸濃度、アンモニア濃度  
および平均ペプチド長

	遊離アミノ酸 (g/L)		アンモニア (mmol/L)		平均ペプチド長	
	分解液	流出液	分解液	流出液	分解液	流出液
グルテン	7.26	0.02	229	0.41	4.87	8.06
大豆蛋白	12.68	0.04	102	0.41	3.17	5.88
カゼイン	12.48	0.03	77	0.10	2.69	4.35
ツェイン	10.36	0.11	170	0.32	2.38	6.29

【0079】

流出液の遊離アミノ酸とアンモニアの濃度は分解液中の濃度の1%以下であり、殆ど除去されていた。平均ペプチド長の変化から遊離アミノ酸と低分子量のペプチドは溶出液に、長いペプチドは流出液に分画されていることが判る。分解液の平均ペプチド長がエキソペプチダーゼによる通常の分解物の平均ペプチド長に比較してかなり低いのは、脱アミドのために塩酸加熱処理を受けているからである。

## 【0080】

10倍に希釈した流出液と溶出液の食塩味増強作用を、0.012mol/L濃度のアルギニンの存在下、評価法1で評価したところ、いずれの流出液も評点4であり、溶出液の評点は0であった。流出液と溶出液を同時に含む10倍希釈液の食塩味増強作用は分解液と同じで評点4であった。アルギニンを使用しない場合も流出液は評点2、溶出液は評点0、両者の組み合わせでは評点2と、同様の傾向を示した。これらの結果から、分解液中の遊離アミノ酸とアンモニウム塩は分解物の食塩味増強作用の発現に必須ではないことが確認された。

## 【0081】

遊離アミノ酸や無機塩が食塩味増強作用の発現に必須の成分ではないことを更に確認するため、分解液中の低分子量の成分を透析により除去した。各々の加水分解液100mLを透析チューブ（和光純薬社製、分画分子量12,000～14,000）に注入し、流水にて2昼夜透析した。透析内液を蒸留水を加えてそれぞれ200mLにあわせた。このようにして調製した溶液中の遊離アミノ酸、アミノ酸および平均ペプチド長を求めた。結果を第5表に示す。なお、それぞれの濃度は分解液100mLに換算して表示した。

## 【0082】

【表5】

第 5 表

透析内液の遊離アミノ酸濃度、アンモニア濃度および平均ペプチド長

	遊 離 ア ミ ノ 酸 (g/L)	アンモニア (mmol/L)	平均ペプチド長
グルテン	0.03	2.08	22.1
大豆蛋白	0.02	0.98	7.9
カゼイン	0.01	0.58	6.7
ツェイン	0.01	1.14	11.3

## 【0083】

透析により透析内液の遊離アミノ酸とアンモニアの濃度は分解液中の濃度の1%以下に減少していた。

食塩味増強作用は食塩濃度を0.1mol/Lに調整した透析内液10倍希釈

液と、同時に対照として、同じ食塩濃度の分解液 20 倍希釈液について、評価法 1 により評価した。アルギニンが存在しない場合には透析内液希釈液も加水分解液希釈液も評点 2 でほぼ同等の増強作用を示し、アルギニンが存在する場合には何れの希釈液も評点 4 であり、ほぼ同等の増強作用を示した。この結果は、先のイオン交換樹脂による分画実験の結果と同様、遊離アミノ酸やアンモニウム塩が本発明の食塩味増強作用発現に必須の成分でないことを示している。また本透析実験の結果からは食塩味増強作用を発揮する有効成分は低分子ペプチドでないことを示している。透析内液そのものはいずれも食塩味は感じられなかった。

【0084】

本実施例に使用した小麦グルテン蛋白質、分解液および透析内液を塩酸分解し、それぞれのアミノ酸組成を測定し、全アミノ酸に対する酸性アミノ酸の比率を求めた結果を第 6 表に示す。

【0085】

【表 6】

第 6 表

全アミノ酸に対する酸性アミノ酸の比率の変化率(重量%)

	原料蛋白質中	分解液中	透析内液中
グルテン	41.9	43.0	48.5
大豆タンパク	32.4	34.3	38.6
カゼイン	29.1	28.9	31.4
ソエイン	29.7	30.5	39.7

【0086】

#### 実施例 4

実施例 3 と同じ大豆蛋白質 50 g を水 450 mL に分散させ、50℃でアルカラーゼを 1 mL 加えて pH 未調整のまま 30 分間反応させた後、6 mol/L 水酸化ナトリウムで pH を 8 に上昇させ、50℃で 21 時間反応させた。反応中、pH は 8 に維持した。反応後、実施例 3 と同様に処理して、分解液 445 mL を得た。全窒素濃度は 13.10 mg/mL、食塩濃度は 0.177 mol/L であった。遊離アルギニン濃度は 0.01 mg/mL 以下であった。脱アミド率は

20%であった。評価法1で、20倍希釈した分解物の食塩味増強作用を評価したところ、アルギニンが存在しない場合には評点1、0.012mol/L濃度のアルギニンの存在下では評点2であった。

【0087】

#### 実施例 5

水温50℃の温水865mLに蛋白質分解酵素アルカラーゼ2mLを加え、これに小麦グルテン133gを徐々に添加し分散させた後、50℃で24時間加水分解反応を行った。反応中、pHを6mol/L水酸化ナトリウムで7.0に調整した。得られた分解液950mLから800mLを取り、これに濃塩酸47.5mLを加え、115℃で90分間加熱した。脱アミド率は90%以上であった。この脱アミド液にアルギニン36gを溶解し、さらに6mol/L水酸化ナトリウムを加えてpH6.5に調整した後、遠心分離と濾過により不溶物を除去し、蛋白質を加水分解処理および脱アミド処理して得られるペプチドとアルギニンを有効成分とする食塩味増強作用を有するグルテン加水分解液800mLを取得した。アルギニンを除く窒素濃度は13.69mg/mL、食塩濃度は0.423mol/Lであった。

【0088】

この分解液の20倍希釈液の食塩味増強作用を評価法1で評価したところ、評点4であり、0.15mol/L食塩とほぼ同じであった。

【0089】

#### 実施例 6

実施例1および実施例2で取得した分解物を飲食品に使用してその食塩味増強作用を調べた。官能検査パネルは調味の専門家からなるパネルを用いた。対象飲食品は野菜風味スープを用いた。食塩を除いたスープミックスの配合を第7表に示す。対照のスープはこのスープミックス0.5%と食塩1%からなるものを用いた。

【0090】

【表 7】

## 第 7 表

## スープミックス配合

原 料	配合 (g)
グルタミン酸ソーダ	62.0
イノシン酸ソーダとグアニル酸ソーダの等量混合物	7.0
クエン酸三ナトリウム	4.0
グラニュー糖	69.0
セロリ末	0.2
ホワイトペッパー	6.0
ガーリック末	1.0
オニオン末	23.0
合 計	172.0

## 【0091】

評価は20%減塩スープと30%減塩スープについて行った。原料由来のナトリウムは僅かであるので、その減塩率の数値への影響は無視した。試験区とその配合を第8表に示す。分解物はペプチドとしてスープ中の食塩量とほぼ等量使用した。食塩味の強さの評価は食品の官能評価で汎用される評点法で行い、食塩濃度1%のスープの食塩味の強さを5とする7段階評価法により行った。20%または30%減塩し、本発明の食塩味増強剤を使用しないスープも調製し、塩味の強さの評価の対照とした。

## 【0092】

t検定により対照1（食塩濃度1%のスープ）と比較して5%の危険率で有意差が認められた試験区の結果には\*をつけてある。

## 【0093】



【表 8】

第 8 表

試験区とその配合 (スープ量 1 0 0 0 ml)

試験区	スープミックス (g)	食塩 (g)	分解物 (ml)
対照 1	5. 0	1 0. 0 0	0
対照 2 (2 0 %減塩)	5. 0	8. 0 0	0
対照 3 (3 0 %減塩)	5. 0	7. 0 0	0
試料 1 : 実施例 1 の分解物 (2 0 %減塩)	5. 0	4. 6 5	1 1 4
試料 2 : 実施例 2 の分解物 (2 0 %減塩)	5. 0	5. 6 8	1 1 4
試料 3 : 実施例 2 の分解物 (3 0 %減塩)	5. 0	4. 7 0	1 0 0

【0 0 9 4】

2 0 %減塩スープの結果を第 9 表に示す。

【0 0 9 5】

【表 9】

第 9 表

2 0 %減塩スープ (パネル人数 1 0 名)

試験区	食塩味
対照 1	5. 0
対照 2	3. 3 *
試料 1 : 実施例 1 の分解物 (2 0 %減塩)	4. 2
試料 2 : 実施例 2 の分解物 (2 0 %減塩)	6. 0 *

【0 0 9 6】

試料 1 は 2 0 %減塩の対照 2 と比較して明らかに食塩味が増強されていた。減

塩しない対照 1 との比較では、有意差は認められなかったが、食塩味は弱い傾向を示した。試料 2 は対照 1 よりも有意差のある明らかに強い食塩味をもっていた。本増強剤の使用は食塩味以外の味に大きな影響を与えなかった。

30%減塩スープの結果を第 10 表に示す。

【0097】

【表 10】

第 10 表

30%減塩スープ (パネル人数 15名)

試験区	食塩味
対照 1	5.0
対照 3	3.2*
試料 3：実施例 2 の分解物 (30%減塩)	4.5

【0098】

実施例 2 の食塩味増強剤を使用して 30%減塩スープを作製した場合、食塩味は 30%減塩スープよりは、食塩味は強くなっていた。減塩しないスープ（対照 1）とは塩味の強さに有意差は認められなかったが、僅かに弱い傾向を示した。本食塩味増強剤の使用は食塩味以外の味に大きな影響を与えなかった。

さらに、試料 3 にコハク酸二ナトリウムを 0.02%使用した 30%減塩スープ（試料 4）を調製し、この食塩味を評価した結果を第 11 表に示す。

【0099】

【表 11】

第 11 表

30%減塩スープ (パネル人数 14名)

試験区	食塩味
対照 1	5.0
対照 3	2.8*
試料 4：実施例 2 の分解物と 0.02 重量%コハク酸二ナト リウム (30%減塩)	5.1

【0100】

コハク酸は先に述べたように、蛋白質を加水分解処理および脱アミド処理して得られるペプチドの食塩味増強剤の作用を強化し、コハク酸二ナトリウムを 0.02 重量%使用したところ、試料 3 の 30%減塩スープは減塩しない対照 1 と同じ強さの食塩味をもち、30%減塩が達成された。本増強剤の使用は食塩味以外の味に大きな影響を与えなかった。

【0101】

## 実施例 7

実施例 1 と同様に小麦グルテン 134 g を脱アミド反応した後、酵素加水分解処理を行い、不溶物を除去し脱色および濃縮した後、凍結乾燥して蛋白質を加水分解処理および脱アミド処理して得られるペプチドを有効成分とする粉末形態の食塩味増強剤 146 g を得た。更に、本粉末 73 g とアルギニン塩酸塩 25 g とを混合し、蛋白質を加水分解処理および脱アミド処理して得られるペプチドとアルギニンを有効成分とする粉末形態の食塩味増強剤 98 g を得た。

【0102】

## 実施例 8

実施例 2 と同様に小麦グルテン 134 g を脱アミド反応した後、中和時にアルギニンを添加し、次いで酵素分解を行ない、不溶物を除去し脱色および濃縮し、蛋白質を加水分解処理および脱アミド処理して得られるペプチドとアルギニンを有効成分とする濃縮溶液形態の食塩味増強剤 300 mL を得た。

【 0 1 0 3 】

【発明の効果】

本発明により、食塩を含有する飲食品の食塩味増強方法並びにそれに用いる食塩味増強剤および食塩味調味料が提供される。また、本発明により減塩飲食品が提供される。

【書類名】 要約書

【要約】

【課題】 食塩を含有する飲食品の塩味増強方法並びにそれに用いる食塩味増強剤および食塩味調味料を提供し、あわせて減塩飲食品を提供すること。

【解決手段】 食塩含有飲食品に酸性ペプチドを添加することを特徴とする飲食品の塩味増強法、酸性ペプチドを有効成分とする塩味増強剤、酸性ペプチドと食塩を含有する食塩味調味料、酸性ペプチドと食塩を含有する食塩味調味料で味付けされた食塩味増強飲食品および酸性ペプチドを含有する食塩味増強剤を添加した食塩含有飲食品。

【選択図】 なし

出 願 人 履 歴 情 報

識別番号 [000001029]

1. 変更年月日 1990年 8月 6日

[変更理由] 新規登録

~~住 所~~ ~~東京都千代田区大手町1丁目6番1号~~

氏 名 協和醗酵工業株式会社